



ЗАМЕТКА

Простой способ культивирования и учёта численности анаэробных бактерий. [Простий спосіб культивування та обліку чисельності анаеробних бактерій. A simple method of culturing and account of anaerobic bacteria number.] Известен ряд способов и приспособлений, позволяющих создавать кислород-дефицитные условия, необходимые для развития анаэробной микрофлоры, в частности, простой и быстрый чашечный метод в модификации Л.Д. Штурм (Родина, 1965). При этом бывает затруднительно полностью избавиться от пузырьков воздуха, а герметичность посева исключает какие-либо эксперименты с газовыми смесями. Для выделения отдельных колоний строгих анаэробов и для подсчёта жизнеспособных клеток используют также метод вращающихся пробирок, что удобнее, чем чашки Петри (Hungate, 1950). Основным его преимуществом является то, что для культивирования специфических групп может быть создана любая атмосфера. Однако, несмотря на очень подробное описание некоторых модификаций метода Хангейта, им довольно трудно овладеть, что ограничивает его применение в полевых условиях. Мы попытались совместить простоту чашечного способа с преимуществами пробирочного. Поскольку наиболее сложной технической задачей является равномерное наложение на стенки пробирки агаровой среды, предложено использовать для этого пробирку меньшего диаметра. Например, если в качестве посевных использовать биологические пробирки П2-21-200 диаметром 21 и длиной 200 мм, то вытесняющие ёмкости могут иметь размер 16 и 150 мм соответственно (П2-16-150). Пробирки стерилизуют суховоздушным способом, либо вложив одну в другую и закрыв большую из них ватно-марлевой пробкой, либо раздельно, если пробирки большего диаметра с заранее внесённой агаровой средой подвергают автоклавированию. Объём среды подбирают эмпирически, так чтобы при погружении вытесняющей пробирки её уровень был ниже кромки на пару сантиметров. Желательно подобранные пары промаркировать. Посев производится стандартно в расплавленную и быстро остуженную до 40 – 45°C среду, после чего в неё погружают вытесняющую пробирку. Эту манипуляцию легко осуществить с помощью упругого пинцета, вставленного внутрь пробирки. Для снижения плавучести в неё можно временно, до застывания среды, поместить груз. Благодаря обтекаемой поверхности вытесняющей пробирки, как правило, достигается полное удаление пузырьков воздуха. Если стоит задача учёта численности бактерий, то после застывания среды в оставшееся пространство между пробирками вносится несколько капель стерильного вазелинового масла, посевная ёмкость закрывается ватно-марлевой пробкой, и в таком виде инкубируется до регистрации результатов. При необходимости моделирования газовой среды и дальнейшей работы с культурами вместо вытесняющей пробирки можно использовать соответствующего диаметра стерильную стеклянную трубку большей длины, чем посевная ёмкость. Трубку погружают в среду, плотно закрыв противоположный конец. После застывания среды её осторожно извлекают, слегка прокручивая. Это будет легче сделать, если на поверхность предварительно нанести тонкий слой стерильного вазелинового масла. Находящийся внутри воздух вытесняют, направляя поток нужного газового состава с помощью трубки либо сверху, либо снизу, в зависимости от его плотности относительно воздуха, после чего пробирку герметично закрывают пробкой. **В. П. Чекалов**, м. н. с. (Институт биологии южных морей НАНУ, Севастополь, Украина).



Рис. 1 Рост сульфатредуцирующих бактерий на модифицированной среде Вильсон-Блер в посевах, произведённых предлагаемым способом
Fig. 1 Growth of sulfate-reducing bacteria on the modified Wilson-Blair nutrient medium. The inoculation was realized by the proposed method